

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботи та розвитку

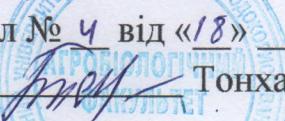

S. M. Kvasha

«01 06 2021 р.

РОЗГЛЯНУТО І СХВАЛЕНО

на засіданні вченої ради агробіологічного
факультету

Протокол № 4 від «18» 05 2021 р.

Декан  Тонха О. Л.

на засіданні кафедри екобіотехнології та
біорізноманіття

Протокол № 9 від «23 жовтого 2021 р.

Завідувач кафедри  Патика М. В.

РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

«ГЕНЕТИЧНА ІНЖЕНЕРІЯ»

1. Рівень вищої освіти – Третій освітньо-науковий
2. Галузь знань – 20 «Аграрні науки та продовольство»
3. Спеціальність – 201 «Агрономія»
4. Освітньо-наукова програма – «Агрономія»
5. Гарант ОНП: Танчик Семен Петрович
6. Розробники:

Патика М. В., завідувач кафедри екобіотехнології та біорізноманіття, д. с.-г. н.,
член-кор. НААН

Патика Т. І., професор кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики,
д. с.-г. н., с. н. с.

Київ – 2021

1. Опис навчальної дисципліни «Генетична інженерія»

Галузь знань, спеціальність, освітній ступінь		
Галузь знань	20 «Аграрні науки та продовольство»	
Освітньо-науковий рівень	Третій	
Освітній ступінь	Доктор філософії	
Спеціальність	201 «Агрономія»	
Освітньо-наукова програма	«Агрономія»	
Характеристика навчальної дисципліни		
Вид	Вибіркова	
Загальна кількість годин	150	
Кількість кредитів ECTS	5	
Кількість змістових модулів	-	
Форма контролю	Екзамен	
Показники навчальної дисципліни		
	Денна та вечірня форми навчання	Заочна форма навчання
Рік підготовки (курс)	1	2
Семестр	2	1
Лекційні заняття	20	20
Практичні, семінарські заняття	-	-
Лабораторні заняття	30	30
Самостійна робота	100	100
Індивідуальні завдання	-	-
Кількість тижневих аудиторних годин дляенної форми навчання	5	-

2. Мета та завдання навчальної дисципліни

Модифікація генетичного матеріалу здійснюється різними методами: в живому організмі (*in vivo*) і поза ним (*in vitro*), відповідно, це два напрямки — клітинна інженерія та генетична інженерія. За допомогою цих методів можливе отримання нових високопродуктивних продуцентів білків і пептидів людини, антигенів, вірусів та ін. Розвиток генетичної і клітинної інженерії призводить до того, що біотехнологічна промисловість все ширше завойовує нові галузі виробництва. Фундаментом для виникнення нових методів біотехнології послужили відкриття в генетиці, молекулярній біології, генетичної ензимології, вірусології, мікробіології та інших дисциплінах.

Від вивчення закономірностей функціонування генетичного матеріалу в клітині незабаром дослідники перейшли до генетичних маніпуляцій, тобто виникла нова експериментальна технологія, яка полягала в введенні в клітини чужорідних генів. Назви «генетична (або генна) інженерія» або «робота з рекомбінантними ДНК» еквівалентні. Суть цієї технології полягає в возз'єднанні фрагментів ДНК *in vitro* з наступним введенням нових («рекомбінантних») генетичних структур в живу клітину.

Генетична інженерія являє собою важливу складову біотехнології та розділ молекулярної генетики, що базується на розробці штучних генетичних систем з використанням маніпуляцій генами на молекулярному рівні шляхом конструювання рекомбінантних ДНК або РНК. Програма — максимум генної інженерії — створення життєздатного організму *de novo* за кресленнями, розробленими в лабораторії, так звана «синтетична біологія». Генетична інженерія полегшує обмін генами між природними генетичними системами. Вплив генетичної інженерії на сучасну біологію полягає в розвитку досліджень структури геномів і індивідуальних генів, з'ясування їх функцій (функціональна геноміка); отримані експресії рекомбінантних генів в новому генетичному оточенні — трансгенез; білкова інженерія; поява технологій, заснованих на антисмислових послідовностях; створення аптамерів, рібозимів і дезоксирибозимів; синтетична біологія.

Отже, сучасні підходи для здійснення різноманітних маніпуляцій із молекулами ДНК є сьогодні не тільки головним інструментарієм для фундаментальних досліджень у галузі молекулярної генетики, а й основою для розвитку нових біотехнологій, котрі базуються на генетичній модифікації мікроорганізмів, рослин і тварин як продуцентів продуктів харчування та біологічно активних сполук.

Метою даного курсу є формування у аспірантів сучасних знань щодо конструювання *in vitro* функціонально активних генетичних структур (рекомбінантних ДНК), або створення штучних генетичних програм (або систем експериментальних прийомів, що дозволяють конструювати лабораторним шляхом (в пробірці) штучні генетичні структури у вигляді так званих рекомбінантних або гіbridних молекул ДНК).

Завдання курсу: формування знань про спрямоване та цільове конструювання молекулярних генетичних систем поза організмом з наступним введенням їх в живий організм; ознайомлення з принципами роботи з

рекомбінантною ДНК як складовою генетичного апарату рецептентного організму з новими та унікальними генетичними, біохімічними, фізіологічними властивостями; вивчення технології рекомбінантних ДНК за допомогою різних методів (наприклад, специфічного розщеплення ДНК нуклеазами рестрикцій, що прискорює виділення і маніпуляції з окремими генами; швидким секвенуванням всіх нуклеотидів в очищеному фрагменті ДНК, що дозволяє визначати межі гена і амінокислотну послідовність; конструюванням рекомбінантних ДНК; гібридизацією нуклеїнових кислот, що дозволяє виявляти специфічні послідовності РНК або ДНК з більшою точністю і чутливістю, засновану на їх здатності зв'язувати комплементарні послідовності нуклеїнових кислот; клонуванням ДНК через ампліфікацію *in vitro* за допомогою ланцюгової полімеразної реакції або введення фрагмента ДНК в бактеріальну клітину, яка після такої трансформації відтворює цей фрагмент у мільйонах копій; введенням рекомбінантних ДНК в клітини або організми.

3. Програма та структура навчальної дисципліни для повного терміну денної (заочної) форми навчання

**Тема 1. Генетична інженерія як наука, фундамент для виникнення
нових методів.** Основні напрями генетичних досліджень. Можливості та перспективи генної інженерії.

Теми 2-3. Ферменти генетичної інженерії. Основні групи ферментів. Рестриктази; Полімерази; Лігази; Полінуклеотидкінази ; Термінальна трансфераза; Фосфатази; Нуклеази; Екзонуклеаза III E.coli. Екзонуклеаза фага λ ; S1-нуклеаза. РНКаза A. ДНКазаI. **Поняття вектора і його ємкості** (Загальна характеристика).

Тема 4. Конструювання рекомбінантних ДНК. Рестрикційно-лігазний метод. Коннекторний метод.

**Теми 5-6. Визначення нуклеотидної послідовності (секвенування)
ДНК.** Метод Маскама-Гілбеота (хімічний). Метод Сенгера (ферментативний). Гібридизація – метод виявлення специфічних послідовностей нуклеотидів. Порівняльна характеристика секвенування і функціонального аналізу. Переваги та недоліки.

Теми 7-8. Методи клонування ДНК. Клонування ДНК *in vitro*. Полімеразно-ланцюгова реакція. Прямий відбір цільового клону. **Поліморфізм
довжин рестрикційних фрагментів (RFLP).** Поліморфізм довжини термінально мічених рестрикційних фрагментів (T-RFLP).

Тема 9. Генетична інженерія рослин. Трансформація рослинного генома-регуляторні елементи. Введення генів в рослинні клітини. Експресія генетичного матеріалу в трансгенних рослинах. Введення ДНК в клітини рослин за допомогою Ti- і Ri-плазмід. Досягнення генної інженерії рослин. Економічна вигода і проблеми біобезпеки трансгенних рослин.

Тема 10. Генетичні інженерія мікробних клітин. Аналіз мікробного різноманіття (метагеному мікробних угруповань). Маркерні гени та їх потенційне застосування. Метагеном – екологічне джерело генів. Основні проблеми, що виникають при генетичних маніпуляціях.

Структура навчальної дисципліни

Назви тем	Кількість годин											
	денна форма						Заочна форма					
	усьо- го	у тому числі				с. р.	усьо- го	у тому числі				с. р.
		л	п	лаб	інд			л	п	лаб	інд	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Тема 1. Генетична інженерія як наука, фундамент для виникнення нових методів. Основні напрями генетичних досліджень. Можливості та перспективи генної інженерії.	14	2			2		10	14	2		2	10
Тема 2. Ферменти генетичної інженерії. Основні групи ферментів. Рестриктази; Полімерази; Лігази; Полінуклеотидкінази; Термінальна трансфераза; Фосфатази; Нуклеази; Екзонуклеаза III E.coli. Екзонуклеаза фага λ ; S1-нуклеаза. РНКаза А. ДНКазаI.	14	2			2		10	14	2		2	10
Тема 3. Поняття вектора і його ємкості (Загальна характеристика).	14	2			2		10	14	2		2	10
Тема 4. Конструювання рекомбінантних ДНК. Рестрикційно-лігазний метод. Коннекторний метод.	12	2					10	12	2			10
Тема 5. Визначення нуклеотидної послідовності (секвенування) ДНК. Метод Маскама-Гілбеота (хімічний). Метод Сенгера (ферментативний). Гібридизація – метод виявлення специфічних послідовностей нуклеотидів.	16	2			4		10	16	2		4	10
Тема 6. Порівняльна характеристика секвенування і функціонального аналізу. Переваги та недоліки.	16	2			4		10	16	2		4	10
Тема 7. Методи клонування ДНК. Клонування ДНК <i>in vitro</i> . Полімеразно-ланцюгова реакція. Прямий відбір цільового клону.	16	2			4		10	16	2		4	10
Тема 8. Поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів (RFLP). Поліморфізм довжини термінально міченіх рестрикційних фрагментів (T-RFLP).	14	2			2		10	14	2		2	10
Тема 9. Генетична інженерія рослин. Трансформація рослинного генома-регуляторні елементи. Введення генів в рослинні клітини. Експресія генетичного матеріалу в трансгенних рослинах. Введення ДНК в клітини рослин за допомогою Ti- і Ri-плазмід. Досягнення генної інженерії рослин. Економічна вигода і проблеми біобезпеки трансгенних рослин.	16	2			4		10	16	2		4	10
Тема 10. Генетичні інженерія	18	2			6		10	18	2		6	10

мікробних клітин. Аналіз мікробного різноманіття (метагеному мікробних угруповань). Маркерні гени та їх потенційне застосування. Метагеном – екологічне джерело генів. Основні проблеми, що виникають при генетичних маніпуляціях.												
Усього годин	150	20	30	100	150	20	30	100				

4. Теми лабораторних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	ПЛР, гель-електрофорез, детекція ПЛР-продукту.	6
2	Ампліфікація поліморфної ДНК (RAPD).	6
3	Поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів (RFLP). Поліморфізм довжини термінально міченіх рестрикційних фрагментів (T-RFLP).	6
4	Робота з опрацювання отриманих даних за допомогою спеціалізованих комп’ютерних програм (MEGAN, QIIME тощо).	6
5	Програми секвенування геномів. Публічні бази даних.	6

5. Самостійна робота

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1.	Генетичне різноманіття та філогенетичний аналіз біоматеріалу.	20
2.	Дослідження плазмідного складу мікроорганізмів ґрунту. Бібліотеки клонів генів 16S рРНК.	20
3.	Кластерний аналіз профілів ДНК тест-культур.	20
4.	Комплексні дослідження ресурсів біому і структури мікробного (прокаріотного) різноманіття.	20
5.	Генетичне різноманіття та філогенетичний аналіз біоматеріалу.	20

6. Методи навчання

Успіх навчання загалом залежить від внутрішньої активності аспірантів, від характеру їхньої діяльності, то саме характер діяльності, ступінь самостійності та творчості мають бути важливими критеріями у виборі методу.

Пояснювально-ілюстративний метод. Аспіранта здобувають знання, слухаючи розповідь, лекцію, з навчальної або методичної літератури, через екранний посібник у «готовому» вигляді. Сприймаючи й осмислюючи факти, оцінки, висновки, вони залишаються в межах репродуктивного (відтворюального) мислення. Такий метод якнайшире застосовують для передавання значного масиву інформації. Його можна використовувати для викладення й засвоєння фактів, підходів, оцінок, висновків.

Репродуктивний метод. Ідеється про застосування вивченого на основі зразка або правила. Діяльність тих, кого навчають, є алгоритмічною, тобто відповідає інструкціям, розпорядженням, правилам – в аналогічних до представленого зразка ситуаціях.

Метод проблемного викладення. Використовуючи будь-які джерела й засоби, педагог, перш ніж викладати матеріал, ставить проблему, формулює пізнавальне завдання, а потім, розкриваючи систему доведень, порівнюючи

погляди, різні підходи, показує спосіб розв'язання поставленого завдання. Студенти стають ніби свідками і співучасниками наукового пошуку.

Частково-пошуковий, або евристичний метод. Його суть – в організації активного пошуку розв'язання висунутих педагогом (чи самостійно сформульованих) пізнавальних завдань або під керівництвом педагога, або на основі евристичних програм і вказівок. Процес мислення набуває продуктивного характеру, але його поетапно скеровує й контролює педагог або самі студенти на основі роботи над програмами (зокрема й комп'ютерними) та з навчальними посібниками. Такий метод, один з різновидів якого є евристична бесіда, – перевірений спосіб активізації мислення, спонукання до пізнання.

Дослідницький метод. Після аналізу матеріалу, постановки проблем і завдань та короткого усного або письмового інструктажу ті, кого навчають, самостійно вивчають літературу, джерела, ведуть спостереження й виміри та виконують інші пошукові дії. Ініціатива, самостійність, творчий пошук виявляються в дослідницькій діяльності найповніше. Методи навчальної роботи безпосередньо переходят у методи, які імітують, а іноді й реалізують науковий пошук.

7. Форми контролю

Контроль знань і умінь (поточний і підсумковий) з дисципліни здійснюють згідно з кредитно-модульною системою організації навчального процесу. Рейтинг студента із засвоєння дисципліни визначається за 100 бальною шкалою. Він складається з рейтингу з навчальної роботи, для оцінювання якої призначається 70 балів, і рейтингу з атестації (екзамену) – 30 балів.

Критерії оцінки рівня знань на лабораторних, семінарських та практичних заняттях. На лабораторних заняттях кожен аспірант з кожної теми виконує індивідуальні завдання. Рівень знань оцінюється: “відмінно” – аспірант дає вичерпні, обґрунтовані, теоретично і практично вірні відповіді не менш ніж на 90% запитань, рішення задач та лабораторні вправи вірні, демонструє знання підручників, посібників, інструкцій, проводить узагальнення і висновки, акуратно оформляє завдання, був присутній на лекціях, має конспект лекцій чи реферати з основних тем курсу; “добре” – коли аспірант володіє знаннями матеріалу, але допускає незначні помилки у формуванні термінів, категорій і розрахунків, проте за допомогою викладача швидко орієнтуються і знаходить правильні відповіді, був присутній на лекціях, має конспект лекцій чи реферати з основних тем курсу; “задовільно” – коли аспірант дає правильну відповідь не менше ніж на 60 % питань, або на всі запитання дає недостатньо обґрунтовані, невичерпні відповіді, допускає грубі помилки, які виправляє за допомогою викладача. При цьому враховується наявність конспекту за темою завдань та самостійність; “незадовільно з можливістю повторного складання” – коли студент дає правильну відповідь не менше ніж на 35 % питань, або на всі запитання дає необґрунтовані, невичерпні відповіді, допускає грубі помилки. Має неповний конспект лекцій.

Підсумкова (загальна оцінка) курсу навчальної дисципліни. Є сумою рейтингових оцінок (балів), одержаних за окремі оцінювані форми навчальної

діяльності: поточне та підсумкове тестування рівня засвоювання теоретичного матеріалу під час аудиторних занять та самостійної роботи (модульний контроль); оцінка (бали) за виконання лабораторних досліджень. Підсумкова оцінка виставляється після повного вивчення навчальної дисципліни, яка виводиться як сума проміжних оцінок за змістовні модулі. Остаточна оцінка рівня знань складається з рейтингу з навчальної роботи, для оцінювання якої призначається 70 балів, і рейтингу з атестації (екзамену) – 30 балів.

8. Розподіл балів

Оцінювання здобувачів відбувається згідно положення «Про екзамени та заліки у НУБіП України» від 25.09.2019 р. протокол № 2

Оцінка національна	Оцінка ЄКТС	Визначення оцінки ЄКТС	Рейтинг здобувача, бали
Відмінно	A	ВІДМІННО – відмінне виконання лише з незначною кількістю помилок	90–100
Добре	B	ДУЖЕ ДОБРЕ – вище середнього рівня з кількома помилками	82–89
	C	ДОБРЕ – в загальному правильна робота з певною кількістю грубих помилок	74–81
Задовільно	D	ЗАДОВІЛЬНО – непогано, але зі значною кількістю недоліків	64–73
	E	ДОСТАТНЬО – виконання задовільняє мінімальні критерії	60–63
Незадовільно	FX	НЕЗАДОВІЛЬНО – потрібно працювати перед тим як отримати залік	35–39
	F	НЕЗАДОВІЛЬНО – необхідна серйозна подальша робота	01–34

Для визначення рейтингу здобувача із засвоєння дисципліни $R_{\text{дис}}$ (до 10 балів) одержаний рейтинг з атестації (до 30 балів) додається до рейтингу здобувача з навчальної роботи $R_{\text{НР}}$ (до 70 балів):

$$R_{\text{дис}} = R_{\text{НР}} + R_{\text{AT}}$$

9. Методичне забезпечення

Науково-методичне забезпечення навчального процесу передбачає: державні стандарти освіти, навчальні плани, навчальні програми з усіх нормативних і вибіркових навчальних дисциплін; програми навчальної, виробничої та інших видів практик; підручники і навчальні посібники; інструктивно-методичні матеріали до семінарських, практичних і лабораторних занять; індивідуальні навчально-дослідні завдання; контрольні роботи; текстові та електронні варіанти тестів для поточного і підсумкового контролю, методичні матеріали для організації самостійної роботи аспірантів.

10. Рекомендована література

Базова:

1. Маниатис Т., Фрітч Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М. : Мир, 1984. 480 с.
2. Бирюков В. В. Основы промышленной биотехнологии. М. : Колос, 2004. 296 с.
3. Гадзalo Я. М., Патыка Н. В., Зарішняк А. С. Агробіологія ризосфери растений: монографія. К.: Аграрна наука, 2015. 386 с.
4. Ніколайчук В. І., Горбатенко І. Ю. Генетична інженерія. Ужгород, 1999. 188 с.
5. Маниатис Т., Фрітч Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М. : Мир, 1984. 480 с.
6. Гончаренко Г. Г. Основы генетической инженерии. Минск: Изд-во Вышэйшая школа, 2005.
6. Rastogi G., Sani R.K. Molecular Techniques to Assess Microbial Community Structure, Function, and Dynamics in the Environment. *Microbes and Microbial Technology: Agricultural and Environmental Applications*. Springer New York, 2011: 29–57.
7. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М. : Мир, 2002. 589 с.
8. Wooley J. C. Metagenomics: Facts and artifacts, and computational challenges. *Journal of computer science and technology*. 2010. 1(25): 71–81.
9. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual, 2nd edn. Cold Spring Harbour Laboratory Publ., NY, 1989.
10. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. Новосибирск: Сибирское университетское изд-во, 2004. 496 с.
11. Бейли Дж., Олліс Д. Основы біохіміческої інженерії. М. : Мир, 1989. Т. 1. 692 с. Т. 2. 590 с.

Додаткова:

1. Воробйова Л. І., Тагліна О. В. Генетичні основи селекції рослин і тварин: Навч. посібник. Х. : Колорит, 2006. 224 с.
2. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіологобіохімічні основи. К. : Логос, 2005. 730 с.
3. Nair A. J. *Introduction to biotechnology and genetic engineering*. Infinity Science Press LLC. Hingham; Massachusetts; New Delhi, 2008. 798 p.
4. Uroz S., Buee M., Murat C. [et al.]. Pyrosequencing reveals a contrasted bacterial diversity between oak rhizosphere and surrounding soil. *Environ Microbiol*. 2010. №. 2. P. 281–288.
5. Green Tringe S., Rubin M. Metagenomics: DNA sequencing of environmental samples. *Naturere views: Genetics*. Nature Publishing Group. 2005. Vol. 6. P. 805–814.
6. Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии. СПб.: Изд-во СПбГТУ, 1999. 522 с.
7. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. Т. 1-2. М.: Мир, 1998.